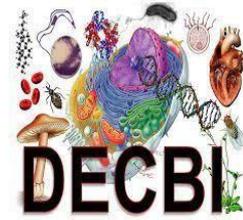




Universidade Federal de Ouro Preto
Departamento de Ciências Biológicas- DECBI
Laboratório de Morfopatologia - LMP



Estudos proteômicos de cepas de *Trypanosoma cruzi* com distintos perfis de susceptibilidade ao benznidazol:

UMA REVISÃO NARRATIVA

Victor Hugo Soares

Ouro Preto – Minas Gerais – Brasil

Setembro/2023

Universidade Federal de Ouro Preto
Departamento de Ciências Biológicas- DECBI

Estudos proteômicos de cepas de *Trypanosoma cruzi* com distintos perfis de susceptibilidade ao benznidazol:

UMA REVISÃO NARRATIVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto.

Victor Hugo Soares

Orientadora: Dr^a. Paula Melo de Abreu Vieira
Co-orientadora: Ma. Thays Helena Chaves Duarte

Ouro Preto – Minas Gerais – Brasil

Setembro/2023

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S676e Soares, Victor Hugo.

Estudos proteômicos de *Trypanosoma cruzi* com distintos perfis de susceptibilidade ao Benznidazol [manuscrito]: uma revisão narrativa. / Victor Hugo Soares. - 2023.

34 f. (Série: 0587301)

Orientadora: Profa. Dra. Paula Melo de Abreu Vieira.

Coorientadora: Ma. Thays Helena Chaves Duarte.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas .

1. Parasitologia. 2. Biologia. 3. Doença de Chagas. I. Vieira, Paula Melo de Abreu. II. Duarte, Thays Helena Chaves. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 573

Bibliotecário(a) Responsável: Luciana De Oliveira - SIAPE: 1.937.800



FOLHA DE APROVAÇÃO

Victor Hugo Soares

**Estudos proteômicos de cepas de *Trypanosoma cruzi* com distintos perfis de susceptibilidade ao benznidazol:
UMA REVISÃO NARRATIVA**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas

Aprovada em 31 de setembro de 2023

Membros da banca

Profa. Dra. Camila Carrião M. Garcia (Presidente, Coordenadora da CBI261), Universidade Federal de Ouro Preto
Profa. Dra. Paula Melo de Abreu Vieira (Orientadora), Universidade Federal de Ouro Preto
Ms. Thays Helena Chaves Duarte (Coorientadora), Universidade Federal de Ouro Preto
Ms. Flávia de Souza Marques, Universidade Federal de Ouro Preto
Ms. Viviane Flores Xavier, Universidade Federal de Ouro Preto

Profa. Dra. Paula Melo de Abreu Vieira, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 04/09/2023.

Profa. Dra. Camila Carrião Machado Garcia, presidente da banca, e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 04/09/2023



Documento assinado eletronicamente por **Camila Carrião Machado Garcia, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 11/09/2023, às 09:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0587301** e o código CRC **44253266**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, por todo apoio e incentivo para que esse sonho fosse realizado.

A toda minha família, mesmo de longe sempre me apoiando e me ajudando de todas as formas possíveis.

A república Tabajara, pelos momentos de carinho e companheirismo que me deram todo o suporte para essa jornada.

As minhas orientadoras Dra. Paula Melo de Abreu Vieira e Ms. Thays Helena Chaves Duarte, por toda paciência e carinho na elaboração deste trabalho.

A universidade federal de Ouro Preto pelo ensino público e de qualidade.

Ao laboratório de Morfopatologia, pelo aprendizado obtido ao longo desses anos.

Aos meus amigos do curso de Ciências biológicas, pela parceria e amizade que me fizeram chegar até aqui.

Aos programas de fomento CAPES, FAPEMIG e CNPQ, pela ajuda e pelo incentivo a ciência.

Aos meus amigos de Ouro Preto, pelo apoio, ajuda e parceria em todos esses anos.

Muito obrigado e minha eterna gratidão a todos vocês!

RESUMO

A doença de Chagas é considerada um grave problema de saúde pública, principalmente nas Américas, no entanto, sua presença já é constatada em diversos outros continentes. Estima-se que cerca de 6 milhões de pessoas em todo o mundo sejam diretamente afetadas por essa enfermidade, resultando em mais de 12 mil mortes anualmente devido a complicações associadas à doença. Além disso, chama a atenção o fato de que aproximadamente 70 milhões de pessoas vivem em áreas consideradas de exposição, o que as coloca em um patamar de maior risco de infecção. Embora existam fármacos disponíveis para o tratamento da doença, como o benznidazol e o nifurtimox, ambos ainda apresentam falhas terapêuticas, efeitos colaterais intensos e baixa eficácia, especialmente em pacientes que se encontram em fase crônica. Essas limitações tornam evidente a necessidade de se buscar soluções mais efetivas para enfrentar a doença de Chagas, melhorando a qualidade de vida dos afetados por essa condição de saúde. Para isso, têm sido realizados estudos mais avançados e aprofundados, com o objetivo de encontrar estratégias mais eficazes de combate à doença em suas múltiplas dimensões. A pesquisa direcionada à descoberta de novos fármacos surge como uma necessidade premente, visto que os medicamentos atualmente disponíveis não conseguem atender plenamente às demandas da doença. No entanto, para avançar nessa área, é imperioso que se estabeleçam protocolos rigorosos, permitindo a realização de estudos comparativos de forma mais sistemática e concisa. A base deste estudo reside em traçar e identificar as principais metodologias associadas a proteômica, uma abordagem promissora para o entendimento das alterações proteicas presentes na doença de Chagas. Isso envolve a análise das cepas utilizadas, o tempo de exposição aos fármacos, a linhagem celular empregada e as proteínas quantificadas na pesquisa. Através deste estudo, nota-se uma falta de padronização para estudos ainda presente em relação à doença de Chagas. O estudo em questão revelou que a diferenciação entre cepas e até mesmo a escolha de uma linhagem celular e de camundongos, quer seja conduzida *in vitro* ou *in vivo*, apresenta considerável variabilidade. No entanto, para uma compreensão mais completa, é fundamental uma exploração mais aprofundada das proteínas envolvidas. Essa investigação detalhada permitirá desvendar seus possíveis potenciais e mecanismos na complexa interação entre o parasito e o hospedeiro. Através dessa compreensão mais profunda, é possível vislumbrar novas oportunidades para abordagens terapêuticas mais eficazes no contexto da doença de Chagas.

Palavras chaves: *Trypanosoma cruzi*, proteômica, Benznidazol, Análise comparativa

ABSTRACT

Chagas disease is considered a serious public health issue, mainly in the Americas; however, its presence has been documented on various other continents as well. It's estimated that around 6 million people worldwide are directly affected by this illness, resulting in more than 12,000 deaths annually due to complications associated with the disease. Additionally, it's noteworthy that approximately 70 million people live in areas deemed as exposure zones, putting them at a higher risk of infection. While drugs like benznidazole and nifurtimox are available for treating the disease, both still exhibit therapeutic failures, intense side effects, and low efficacy, especially in patients in the chronic phase. These limitations underscore the need to seek more effective solutions to address Chagas disease and improve the quality of life for those affected by this health condition. To this end, more advanced and in-depth studies have been conducted with the aim of finding more efficient strategies to combat the multi-dimensional aspects of the disease. Research focused on discovering new drugs emerges as an urgent necessity, given that the currently available medications fall short of fully meeting the disease's demands. However, to make progress in this field, it's imperative to establish rigorous protocols that allow for more systematic and concise comparative studies. This study's foundation lies in outlining and identifying the main methodologies associated with proteomics, a promising approach for understanding the protein alterations present in Chagas disease. This involves analyzing the strains used, the duration of drug exposure, the employed cell lineage, and the quantified proteins in the research. Through this study, a lack of standardization in Chagas disease studies is evident. The study in question revealed that differentiation between strains and even the selection of a lineage, whether conducted in vitro or in vivo, exhibits considerable variability. However, for a more comprehensive understanding will unveil their potential and mechanisms in the complex interaction between the parasite and the host. Through this deeper comprehension, new opportunities for more effective therapeutic approaches in the context of Chagas disease can be envisaged.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*, proteomic, Benznidazol, Comparative analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Carlos Chagas descobridor da doença de Chagas.....	14
Figura 2: Medalha comemorativa da doença de Chagas	16
Figura 3: Eventos do ciclo de vida do <i>T. cruzi</i>	17
Figura 4: Variedades de DTUs na doença de Chagas	20
Figura 6: Medicamentos utilizados no tratamento da doença de Chagas.....	23
Figura 7: Etapas do processo de análise proteômica.....	24

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1: Dados extraídos dos artigos em estudo.....	27
Gráfico 1: Frequência do uso de tipos/linhagens celulares	28
Gráfico 2: Número de linhagens utilizadas em estudo	29

LISTA DE ABREVIATURAS

BNZ – Benznidazol

DALY - Disability-Adjusted Life Years

DC - Doença de Chagas

DTU - Unidades Discretas de Tipagem

EPIs - Equipamento de proteção individual

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz

IOC – Instituto Oswaldo Cruz

NFX - Nifurtimox

OMS - Organização Mundial de Saúde

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde

PUBMED – National library of Medicin

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	10
2.1. Objetivo Geral	10
2.2. Objetivos específicos	10
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1. Histórico da doença de Chagas	11
3.2. Ciclo da doença de Chagas	14
3.3. Transmissão da doença de Chagas	15
3.4. DTUs relacionados a doença de Chagas	16
3.5. Manifestações Clínicas	18
3.6. Tratamento	19
3.8. Proteômica aplicada a doença	20
8. METODOLOGIA	23
9. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
10. CONCLUSÃO	29
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1. INTRODUÇÃO

No ano de 1909, um marco histórico na medicina foi alcançado por Carlos Chagas, um médico notável que na época atuava como pesquisador assistente no Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Foi nesse contexto que uma revelação de grande importância surgiu na localidade de Lassance, situada no interior de Minas Gerais. Nesse cenário intrigante, emergiu uma nova enfermidade humana, posteriormente batizada de tripanossomíase americana, também conhecida como a doença de Chagas. Pela primeira vez na história da medicina, um único pesquisador conseguiu identificar em sequência o vetor causador (o inseto popularmente chamado de "barbeiro"), o agente etiológico (o protozoário *Trypanosoma cruzi*) e a própria doença originada por esse parasita. Carlos Chagas não apenas expandiu o conhecimento médico da época, mas também demonstrou a importância de desafiar as convenções estabelecidas em busca de avanços significativos na compreensão e tratamento das doenças (KROPPF; AZEVEDO; FERREIRA, 2007).

Originária da América Latina e presente em diversos continentes, a doença de Chagas é considerada endêmica em 21 países latinos, abrangendo desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina e do Chile. A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) estima que, atualmente, aproximadamente seis milhões de pessoas ao redor do mundo estão infectadas pelo parasita, resultando em mais de 12 mil mortes a cada ano devido a complicações clínicas relacionadas à doença. Ademais, cerca de 70 milhões de pessoas vivem em áreas de exposição e estão sob risco de contrair a infecção (OPAS, 2022). Apesar de ser encontrada principalmente na América Latina, a doença de Chagas tem sido cada vez mais identificada em outros continentes nas últimas décadas, fato atribuído à globalização e ao aumento das viagens internacionais e do comércio entre países endêmicos e não endêmicos (WHO, 2019).

Até a década de 1990, a doença de Chagas era considerada a doença parasitária de maior impacto socioeconômico na América Latina. A carga da doença, aferida pelo indicador “anos de vida perdidos ajustados por incapacidade” (tradução do título do indicador em inglês, Disability-Adjusted Life Years - DALY), era maior que a de todas as demais doenças parasitárias combinadas. O DALY mede, simultaneamente, os efeitos da mortalidade e dos problemas de saúde que afetam a qualidade de vida dos indivíduos.

De acordo com o Ministério da Saúde (2019), até 30% das pessoas com infecção crônica desenvolvem complicações cardíacas e até 10% apresentam complicações digestivas, neurológicas ou combinações dessas condições, as quais requerem tratamento específico. Para obter os melhores resultados possíveis em relação à cura, é crucial iniciar o tratamento durante as fases iniciais da infecção, ou seja, na fase aguda.

Desde que foi identificada, a doença de Chagas tem despertado a atenção de inúmeros pesquisadores no que se refere ao seu tratamento etiológico. Um número substancial de substâncias já foi investigado com esse propósito, no entanto, a maior parte delas foi utilizada de maneira empírica. (BOAINAIN; RASSI, 1979).

No Brasil, o medicamento utilizado para tratar a doença de Chagas é o Benznidazol (BZ). Ainda que seja eficaz durante a fase aguda da doença, alcançando uma taxa de sucesso de 80% em termos de cura, sua eficácia durante a fase crônica, na qual a maioria dos pacientes recebe diagnóstico, é bem mais limitada, variando entre 8% e 20% (SALES et al., 2017). Diversos fatores contribuem para a falta de sucesso terapêutico. Alguns estão relacionados à maneira como o BZ é metabolizado e distribuído pelo organismo, enquanto outros têm origem no polimorfismo das cepas do *T. cruzi*, conferindo a elas perfis únicos de suscetibilidade e resistência ao medicamento (PERIN, 2019; SALES et al., 2017). O exato mecanismo de ação do BZ ainda permanece parcialmente desconhecido. Embora haja evidências de que o tratamento possa influenciar a resposta à doença, ainda não foi estabelecida uma ligação direta com melhorias clínicas, o que mantém seu uso indefinido em alguns cenários (WILKINSON et al., 2008).

Além dos efeitos tóxicos resultantes do BZ e NFX, pacientes adultos precisam manter o uso contínuo do medicamento por períodos prolongados (BERMUDEZ et al., 2016). Portanto, existe uma crescente urgência em explorar abordagens terapêuticas inovadoras para reduzir os efeitos colaterais induzidos por esses medicamentos, seja por meio de uso isolado ou em conjunto com outros compostos.

Dessa forma, investigações mais detalhadas sobre sua eficácia e mecanismo de ação podem esclarecer sua utilidade, e uma delas é a técnica conhecida como proteômica. O proteoma se refere ao conjunto de proteínas expressas em uma amostra biológica em um momento e local específicos, independentemente de sua origem ser celular, tecidual ou fluídica. A proteômica surge como uma ferramenta de investigação, fornecendo suporte a estudos focados na expressão de proteínas, especialmente em grupos de tripanossomatídeos, que são

protozoários que aparentemente não empregam o início da transcrição como uma etapa regulatória da expressão gênica (SANTOS JUNIOR et. al., 2018). Segundo o autor BARBOSA et al. 2012, os recentes avanços nas metodologias neste campo têm gerado novas oportunidades para obter informações relevantes sobre os processos normais e anormais que ocorrem no organismo humano. Isso evidencia que a proteômica viabilizou a análise simultânea de um amplo conjunto de proteínas, o que detém o potencial de oferecer perspectivas mais abrangentes e minuciosas acerca dos processos biológicos. Além disso, a proteômica pode ser empregada na identificação de biomarcadores específicos e sensíveis, os quais demonstram utilidade no diagnóstico, no monitoramento da resposta à terapia, na previsão dos desfechos clínicos e em diversas outras aplicações clínicas, incluindo a descoberta de novas doenças.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Realizar uma revisão narrativa da literatura sobre estudos proteômicos de cepas de *Trypanosoma cruzi* com distintos perfis de susceptibilidade ao benznidazol

2.2 Objetivos específicos

- Traçar estratégias de busca na literatura;
- Selecionar as publicações de acordo com os parâmetros pré-estabelecidos;
- Extrair de cada publicação selecionada a partir dos bancos de dados as informações sobre: modelos experimentais, cepa e DTUs utilizados, modelo de estudo abordado e principais proteínas encontradas;
- Reunir e organizar as informações chaves de maneira concisa;
- Relacionar os estudos feitos em cada artigo selecionado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Histórico da doença de Chagas

Segundo FITARELLI, D. B. E HORN, J. F. (2008), em 1908, na região norte de Minas Gerais, na cidade então chamada de Lassance, Carlos Chagas, figura 1, descobriria e mudaria a história científica do Brasil ao identificar mais uma doença, que ficou conhecida como Doença de Chagas. Inicialmente, como assistente do Instituto Oswaldo Cruz, ele foi enviado para investigar e combater a malária, que estava afetando os trabalhadores daquela região. Entretanto, ele acabou descobrindo um possível parasito em um mico, que foi então denominado *Trypanosoma minasense*. Posteriormente, após uma série de estudos, outro parasito foi identificado, desta vez em um inseto hematófago conhecido como "barbeiro" ou "chupão", que era bastante comum nas casas daquela região (FITARELLI E HORN, 2008; NEVES et al., 2005).

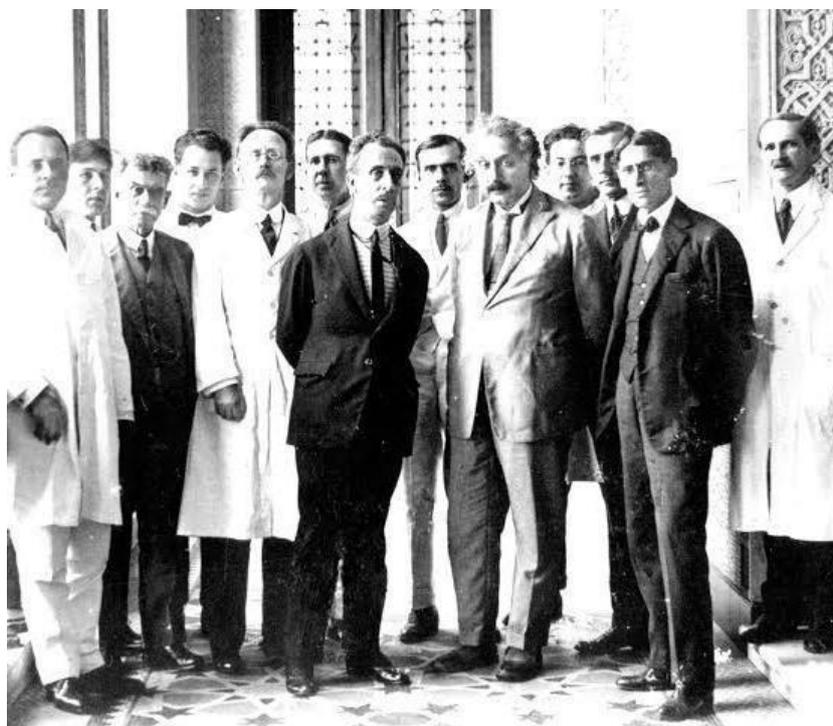


Figura 1 - Em 1925, Carlos Chagas descobridor da doença recebe Einstein ao lado de outros pesquisadores de Manguinhos em uma das varandas do castelo mourisco.

Acervo COC/FIOCRUZ (ACESSO EM: 15 de agosto de 2023).

Fonte: <https://chagas.fiocruz.br/historia/carlos-chagas/>

Em março de 1909, Carlos Chagas se deparou com um caso clínico envolvendo uma criança de 2 anos que estava com febre. Ao examinar uma gota espessa do sangue da criança sob um microscópio, ele descobriu a presença do mesmo parasito que estava pesquisando. A partir desse momento, Chagas ampliou seus estudos e descobriu que se tratava de uma zoonose, que apresentava ciclos distintos: um no inseto vetor e outro em animais, sejam eles silvestres ou domésticos (GILBER, 2007).

Assim, o pesquisador Carlos Chagas, como uma homenagem ao seu chefe Oswaldo Cruz, nomeou esse novo parasito como *Trypanosoma cruzi*. Logo em seguida, ele realizou estudos nos quais descobriu os reservatórios da doença, bem como os insetos vetores responsáveis por transmiti-la. Ele também investigou o ciclo biológico do parasito e sua patogenia por meio de diagnósticos baseados na observação de gota sanguínea (GILBER, 2007).

Segundo a FIOCRUZ, a contribuição de Carlos Chagas é considerada única na história da medicina, uma vez que abrangeu todo o ciclo da doença: o agente etiológico *Trypanosoma cruzi* e seu processo evolutivo; o inseto vetor, o barbeiro, e seus hábitos de vida; os reservatórios domésticos, incluindo gatos; e a patologia - a doença de Chagas. Sobre essa descoberta, Oswaldo Cruz afirmou: "A revelação dessa enfermidade se destaca como o melhor exemplo do poder da lógica a serviço da ciência. Nunca antes, no campo da pesquisa biológica, havia sido alcançada uma descoberta tão complexa e brilhante, e, mais ainda, por um único pesquisador." (CHAGAS, 1909). Em 1959 foi feita uma medalha comemorativa dos cinquenta anos de descoberta da doença de Chagas, como mostra a figura 2.



Figura 2 - Medalha comemorativa do cinquentenário da descoberta da doença de Chagas.

Acervo COC/FIOCRUZ (ACESSO EM: 15 de julho de 2023).

Fonte: <https://chagas.fiocruz.br/historia/carlos-chagas/>

3.2 Ciclo da Doença de Chagas

A zoonose conhecida como doença de Chagas é causada pelo protozoário monoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Seu ciclo biológico apresenta diversas fases e formas evolutivas no hospedeiro, incluindo tripomastigotas, amastigotas, epimastigotas e esferomastigotas (NEVES et al, 2005). A figura 3 representa de forma ilustrativa o ciclo de vida do parasito.

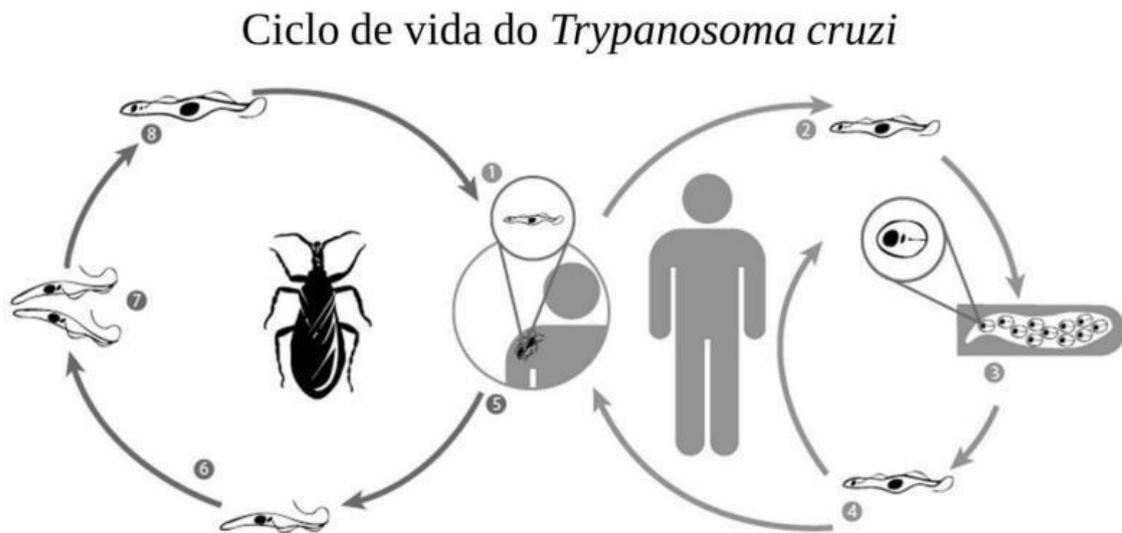


Figura 3 – Eventos do ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*: **1.** Tripomastigotas metacíclicas são liberadas por meio das fezes do inseto vetor infectado, e posteriormente o parasito pode infectar o hospedeiro vertebrado por uma lesão napele; **2.** Tripomastigotas metacíclicas são fagocitadas e ao escaparem do fagossomo se diferenciam em formas amastigotas no citoplasma; **3.** Amastigotas se replicam; **4.** Amastigotas se diferenciam em formas tripomastigotas sanguíneas e após o rompimento celular caem no sistema circulatório infectando novas células; **5.** Inseto vetor ingere sangue contendo tripomastigotas; **6.** Tripomastigotas se diferenciam em formas epimastigotas; **7.** Epimastigotas multiplicam-se na luz do sistema digestivo do inseto vetor; **8.** Epimastigotas se diferenciam em tripomastigotas metacíclicas.

Fonte: (SANTOS JUNIOR, 2018). Acesso: 20/07/2023.

Em sua forma tripomastigotas, possuem uma morfologia mais alongada e fusiforme. Seu núcleo é posicionado ao centro e a mitocôndria (rica em DNA). Essa forma ocorre em hospedeiros vertebrados, assim como em triatomíneos, sendo encontrada em suas correntes sanguíneas e na porção distal do tubo digestivo do inseto vetor. No entanto, ela não possui a capacidade de multiplicação, sendo esta a forma infectante para os hospedeiros vertebrados.

(CIMERMAN; CIMERMAN, 2008; MARKELL et al, 2003). Em formas amastigotas, são encontradas no interior das células de hospedeiros infectados ou em cultivo celulares, são formas que se multiplicam por fissão binária e apresentam flagelo pequeno, porém, sem mobilidade (LOZANO, 2011) . Já em formas epimastigotas e esferomastigotas, não são encontradas em hospedeiros vertebrados. As epimastigotas têm flagelos e um formato alongado, demonstrando uma grande mobilidade. Elas se multiplicam através de divisão binária simples tanto em meio de cultura quanto no vetor (NEVES et al, 2005). Na forma esferomastigota, o parasito adota uma configuração esférica e exibe capacidade replicativa. Essas formas são localizadas no vetor, mais precisamente na região do estômago (Cimerman, 2008).

3.3 Transmissão da Doença de Chagas

Conforme destacado por ARAS et al. (2003), a transmissão da Doença de Chagas ocorre principalmente por vetores, englobando 80% dos casos, embora estudos revelem que em áreas urbanas, especialmente no Brasil e América Latina, a via oral é principal via de transmissão. Além disso, outras vias de transmissão como a acidental, congênita e por transplante também são relevantes. Segundo os autores COSTA, M. et al, (2013), a transmissão vetorial envolve a interação entre o vetor triatomíneo e o hospedeiro, sendo que a defecação do inseto é crucial para a infecção e a transmissão congênita ocorre via transplacentária, demandando monitoramento e diagnóstico materno. Casos de transmissão oral foram documentados em diversos estados brasileiros (CAVALCANTI et al, 2009). Falhas de biossegurança podem intensificar essa forma de contaminação. O transplante de órgãos também é um meio de contágio, principalmente em fases agudas da doença (DIAS; AMATO NETO, 2011).

3.4 DTUs relacionados a doença de Chagas

O *T. cruzi*, parasito causador da doença de Chagas, exibe uma marcante heterogeneidade em diversos aspectos. Essa variabilidade se manifesta não apenas em sua morfologia, virulência e fatores genéticos, mas também em relação à sua patogenicidade e uma série de outros

elementos. Atualmente, essa complexidade tem impulsionado uma ampla gama de estudos que exploram a epidemiologia, genética e outros fatores moleculares associados a diferentes cepas e linhagens do *T. cruzi*. A compreensão dessas variações é fundamental não apenas para o avanço do conhecimento científico, mas também para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de prevenção, diagnóstico e tratamento da doença de Chagas. A partir desse contexto, estudos e métodos de identificação de espécies foram desenvolvidos em 2008, com o objetivo de testar e caracterizar diversas tipagens de tripanossomatídeos americanos. Após a verificação de sua eficácia, essa abordagem foi empregada para determinar e mapear as linhagens filogenéticas, também conhecidas como *Discrete Typing Units* DTUs, presentes nos tripanossomatídeos americanos. Essa metodologia foi submetida a rigorosos testes e resultou em informações robustas e confiáveis segundo Zingales et al., (2021).

Segundo Zingales e colaboradores (2022), atualmente o *Trypanosoma cruzi* exibe uma classificação em sete DTUs distintas, que vão do TcI ao TcVI e Tcbat. A DTU TcI possui uma ampla distribuição geográfica, abrangendo desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina e Chile. Ela é encontrada tanto em ambientes silvestres quanto domésticos, desempenhando um papel significativo na transmissão da doença, especialmente em áreas ao norte da Bacia Amazônica. Essa DTU também demonstra uma considerável diversidade genética, incluindo possíveis subdivisões dentro da mesma linhagem. A relação entre as outras subespécies, ou seja, as TcII, TcV e TcVI, está associada a casos clínicos em pacientes da doença em países da região Sul e na Bolívia. Por outro lado, TcIII e TcIV estão vinculadas aos ciclos de florestas úmidas, enquanto o Tcbat é inicialmente encontrado em morcegos e posteriormente identificado em seres humanos. Mesmo com os estudos sobre o *T. cruzi* indicando um aumento significativo em suas populações, ainda não se chegou a um consenso consolidado em relação à sua diversidade.

Diversos fatores, incluindo a interação com vetores triatomíneos e hospedeiros mamíferos, associados às condições ambientais, contribuem para uma maior variação de DTUs, como mostra a figura 4. Isso ocorre devido à heterogeneidade do *T. cruzi*, o que amplia as chances de surgirem novas variantes. Essas mudanças são resultado da seleção natural que ocorre ao longo do tempo, permitindo uma melhor adaptação do parasito às condições ambientais e aos hospedeiros (ZINGALES et al., 2022).

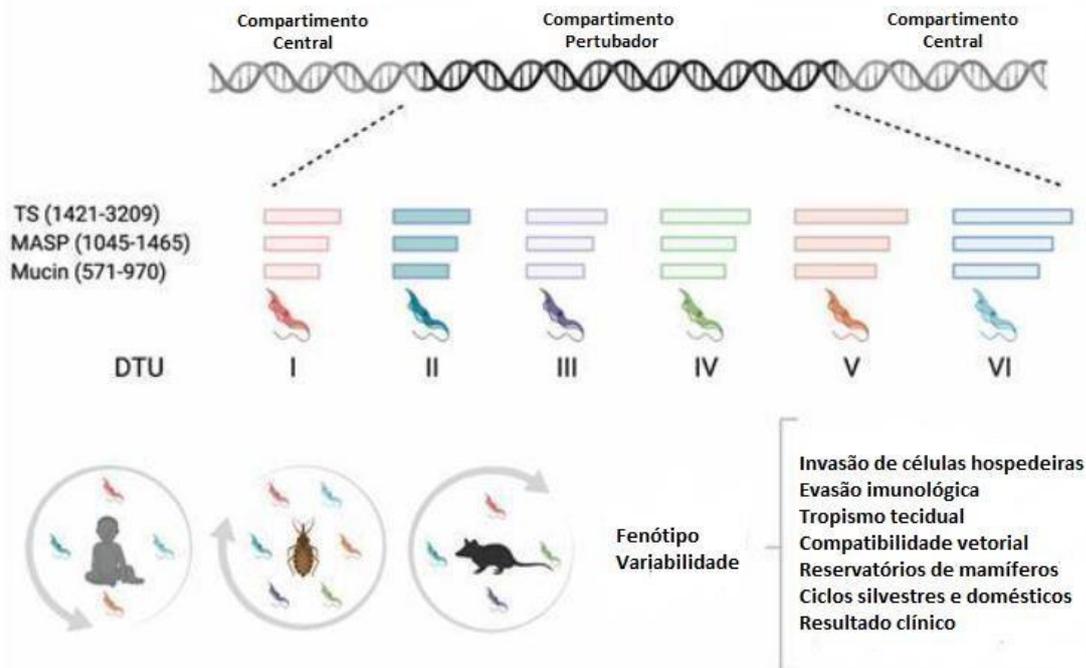


Figura 4 - Variedade de famílias multigênicas que codificam proteínas de superfície é observada entre as unidades discretas de tipagem DTUs do *Trypanosoma cruzi*, refletindo a adaptabilidade do parasito a diferentes hospedeiros e ambientes. O genoma do *T. cruzi* está dividido em regiões centrais e disruptivas. A porção central contém genes que codificam proteínas conservadas, principalmente ligadas a funções de manutenção da estrutura. Em contraste, a região disruptiva abriga genes multicópia responsáveis por produzir proteínas polimórficas de superfície, como TS, MASP e mucina. Estas exibem notável variabilidade sequencial tanto intragenômica quanto entre diferentes DTUs. Essas famílias de genes desempenham papéis em várias interações entre o parasito e o hospedeiro, contribuindo potencialmente para a habilidade do *T. cruzi* em estabelecer infecções em distintas células hospedeiras e mamíferos, além de explorar diversos nichos. As barras horizontais coloridas e os intervalos numéricos representam a quantidade de cópias de genes em cada família nas diferentes cepas de DTUs. As DTUs comumente associadas a infecções humanas (TcI, II, IV e V), vetores (todas as DTUs) e reservatórios (TcI, II, III e IV) são indicadas nos círculos na parte inferior. **Fonte: (ZINGALES et al, 2021) Acesso: 27/07/2023.**

3.5 Manifestações Clínicas

De acordo com Lozano (2011), a fase aguda da doença de Chagas, tanto sintomática quanto assintomática, ocorre principalmente em crianças e apresenta sinais como o chagoma inoculável. Esses sinais surgem cerca de sete a dez dias após a infecção e persistem por um período de dois a quatro meses. A fase crônica da doença é dividida em três grupos clínicos: cardíaco, digestivo e indeterminado.

Na forma indeterminada, poucas alterações são observadas, tornando as mudanças de

baixa relevância. Estudos indicam que cerca de 60% dos pacientes infectados se encontram nessa forma. Por outro lado, nas formas digestiva e cardíaca, exames identificam a presença de achados clínicos. A problemática subjacente é que pacientes com a forma digestiva da doença frequentemente apresentam resultados negativos em testes sorológicos, enquanto exames parasitológicos indicam positividade. segundo Lozano (2011). Isso sugere que nem todos os indivíduos infectados exibem sintomas clínicos, permanecendo assintomáticos logo após a fase aguda da doença, como ilustrado na figura 5.

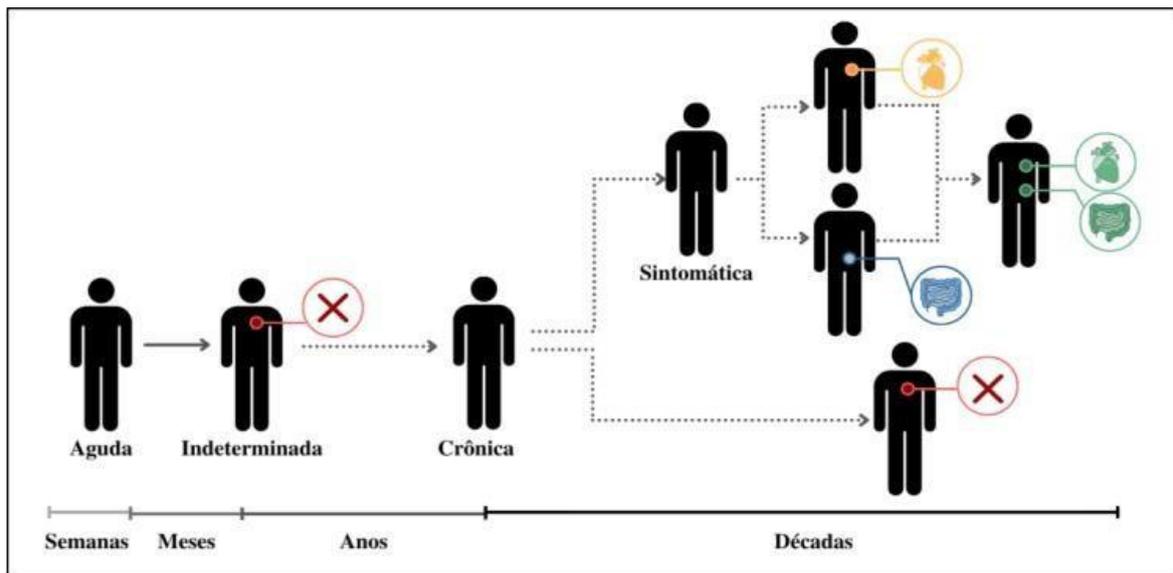


Figura 5 - Evolução da doença de Chagas ao longo do tempo. As diferentes formas clínicas da doença são representadas pelas diferentes cores. **Vermelho:** indivíduos com a doença indeterminada; **Amarelo:** indivíduos com a doença cardíaca; **Azul:** indivíduos com a doença digestiva; **Verde:** indivíduos com a doença cardiodigestiva. **Fonte:** (SANTOS JUNIOR, 2018). **Acesso em:** 18/07/2023.

3.6 Tratamento

De acordo com a OMS (2023), os fármacos disponíveis para o tratamento da doença de Chagas são o benznidazol ou o nifurtimox (figura 6). Ambas podem ser consideradas eficazes quando administradas após a infecção na fase aguda, assim como na transmissão congênita. No entanto, a eficácia desses fármacos diminui à medida que a infecção persiste por mais tempo. Em pacientes mais idosos, reações adversas tendem a ser mais frequentes. Em casos de reativação parasitária, o tratamento também é recomendado, como em casos de imunossupressão ou pacientes com afase inicial crônica.

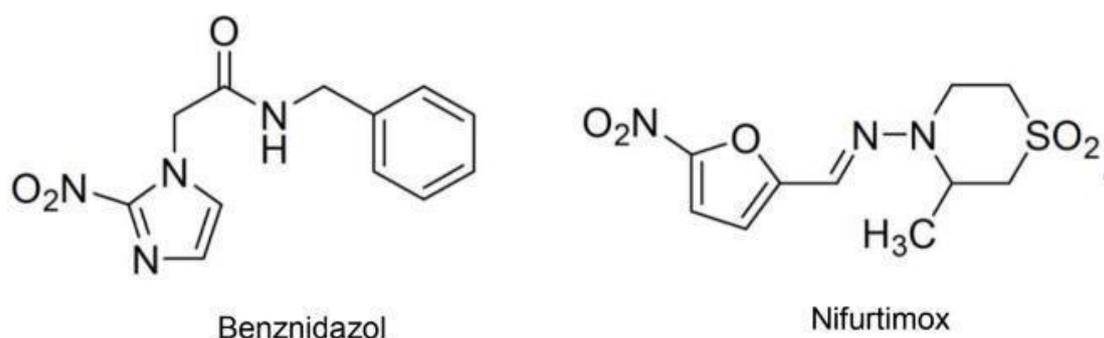


Figura 6 - Medicamentos utilizados no tratamento etiológico da doença de Chagas: (a) benznidazol; e (b) nifurtimox. Fonte: <https://chagas.fiocruz.br/doenca/tratamento/> Acesso: 10/07/2023.

Assim, a doença de Chagas continua sendo uma condição para a qual ainda não há um tratamento completamente eficaz para todos os pacientes tratados, apesar das numerosas pesquisas conduzidas por vários laboratórios e pesquisadores, especialmente na América do Sul. Essa dificuldade é decorrente das diferenças e da diversidade genética encontradas no *T. cruzi*, resultando em alguns compostos sendo eficazes em determinadas regiões da América do Sul, mas ineficazes em outras, o que explica as falhas terapêuticas observadas na abordagem da doença OMS (2023).

3.8 Proteômica Aplicada a Doença

Segundo LILOSO (2022), a proteômica é definida como uma técnica que se concentra na caracterização de um proteoma, englobando suas estruturas, funções e modificações ligadas às proteínas. Sua relevância decorre de sua capacidade de identificar e decodificar estruturas baseadas em modificações encontradas, as quais estão associadas a conexões expressas em resposta a estímulos externos (figura 7). Essa abordagem é considerada bastante significativa, já que compreende e associa a função específica de um gene, viabilizando o diagnóstico e a compreensão de mecanismos relacionados a patógenos, bem como as alterações apresentadas por meio da expressão em diferentes vias de proteínas funcionais associadas a diversas doenças.

LILIOSO (2022), cita também que a aplicação da proteômica já está sendo empregada em estudos vinculados ao *T. cruzi*, contudo, a utilização de isolados obtidos de pacientes com distintas manifestações clínicas da doença de Chagas ainda é limitada. No contexto dessa utilização, o fator que ainda apresenta um desafio significativo reside na compreensão das expressões e do metabolismo energético dessas proteínas, uma vez que as formas e cepas do *T. cruzi* exibem uma notável variabilidade.

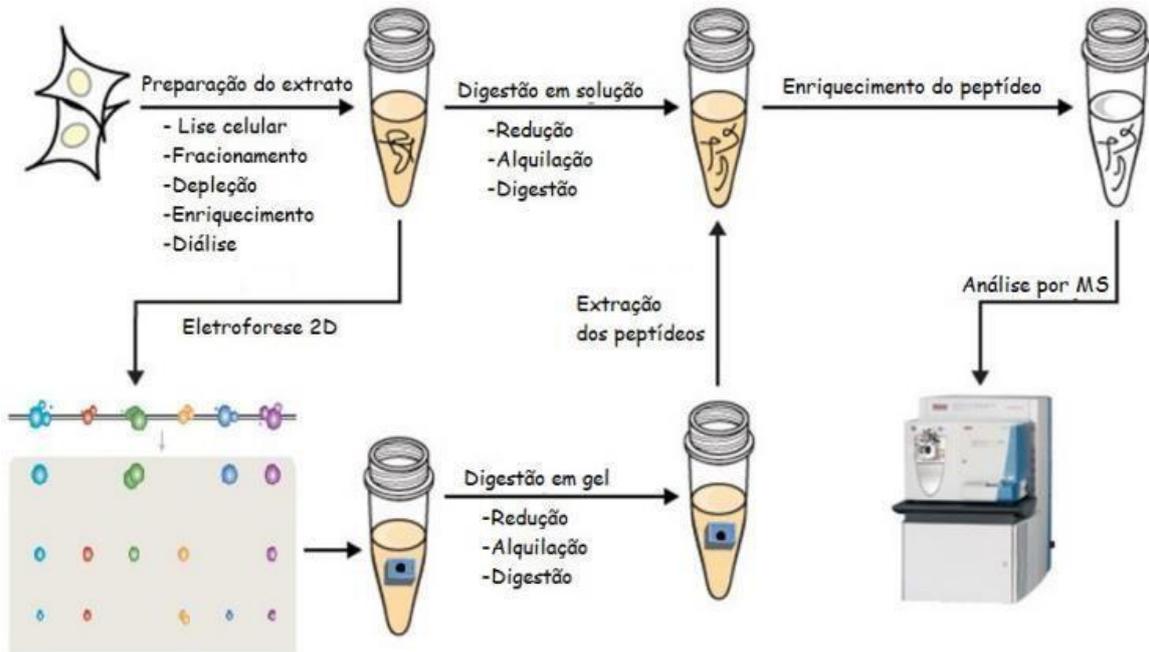


Figura 7 - Etapas comumente seguidas em uma análise proteômica “bottom-up”: preparação do extrato, digestão e análise por espectrometria de massa. **Fonte:** (EMIDIO, 2015)

Acesso: 18/07/2023

8. METODOLOGIA

Para alcançar o propósito estabelecido, foram delineadas as estratégias de pesquisa na literatura. A coleta de informações teve lugar em junho de 2023, a partir de artigos científicos publicados nas bases de dados acessíveis pelo portal de periódicos PUBMED.

Realizou-se a correlação entre as palavras-chave “Chagas disease” AND (*Trypanosoma cruzi*) AND (Proteomic) AND (Benznidazole), empregando o operador booleano "AND" para gerar a interseção entre os descritores e filtrar somente os artigos contendo as palavras-chave selecionadas, com o intuito de delimitar o alcance da pesquisa. Foram analisadas as pesquisas publicadas no período de 2008 a 2023 e, a partir disso, essas foram inicialmente selecionadas com base nos títulos e resumos. Esses deveriam atender, como critério primário, aos termos: *Trypanosoma cruzi*, benznidazol e proteômica. Posteriormente, os artigos previamente selecionados foram lidos na íntegra e somente aqueles que realizaram análises proteômicas utilizando uma linhagem *in vivo* ou *in vitro* e BNZ como fármaco de referência foram escolhidos para este estudo. Foram descartados os estudos que não exibiam resultados de pelo menos um parâmetro. Além disso, os artigos inacessíveis ou indisponíveis também foram eliminados.

9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a exploração da base de dados do Pubmed, uma busca meticulosa resultou na identificação de um total de 12 artigos considerados pertinentes ao tópico em análise. Diante desse amplo conjunto, uma etapa de refinamento foi implementada, focalizando especificamente na inclusão de estudos publicados ao longo dos últimos quinze anos, ou seja, entre os anos 2008 e 2023.

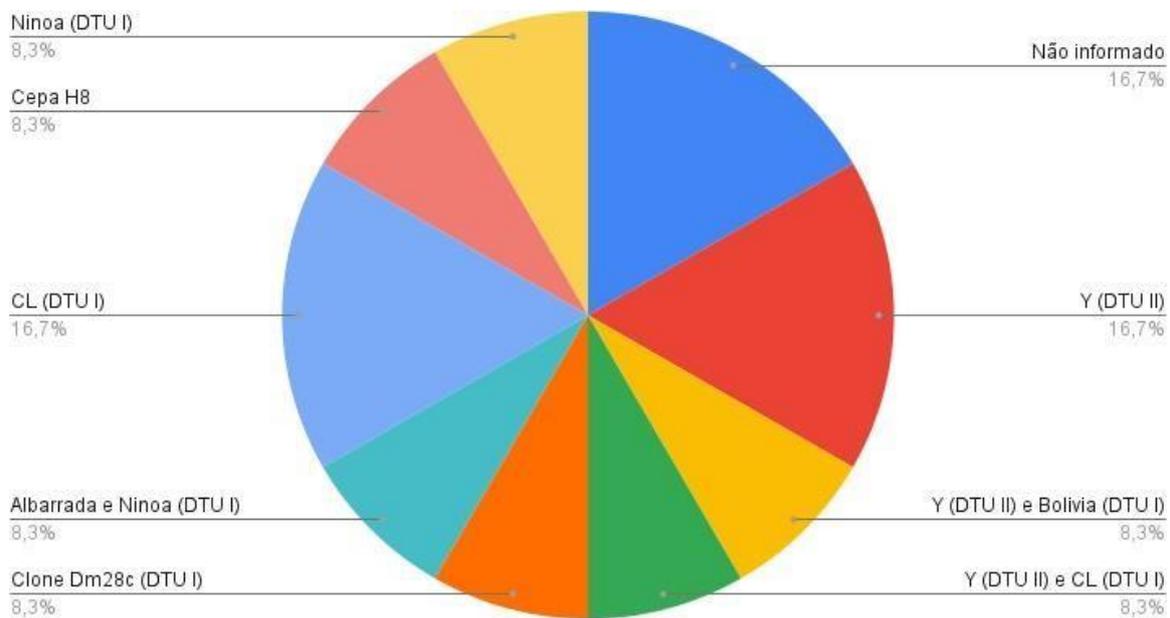
Ao final dessa fase de avaliação, todos os 12 artigos se revelaram fundamentais para os objetivos da pesquisa e, conseqüentemente, foram escolhidos para uma análise abrangente e minuciosa em sua totalidade. A adoção desse enfoque criterioso e minucioso se propõe a assegurar que apenas os estudos mais pertinentes e importantes sejam considerados no desenvolvimento deste trabalho.

Tabela 1 - Dados extraídos dos artigos utilizados no estudo.

ARTIGO	AUTOR	LINHAGEM UTILIZADA	CEPA E DTUs	ORGÃO AVALIADO
Proteome expression and carbonylation changes during <i>Trypanosoma cruzi</i> infection and Chagas disease in rats.	Wen JJ, Garg NJ. (2011)	Ratos Sprague-Dawley (In vivo)	-	-
Experimental Chemotherapy for Chagas Disease: A Morphological, Biochemical, and Proteomic Overview of Potential <i>Trypanosoma cruzi</i> Targets of Amidines Derivatives and Naphthoquinones.	de Castro SL, Batista DG, Batista MM, Batista W, Daliry A, de Souza EM, Menna-Barreto RF, Oliveira GM, Salomão K, Silva CF, Silva PB, Soeiro Mde N. (2011)	-	Y (DTU II)	-
<i>Trypanosoma cruzi</i> : analysis of two different strains after pipilartine treatment.	Vieira GAL, Silva MTAD, Regasini LO, Cotinguiba F, Laure HJ, Rosa JC, Furlan M, Cicarelli RMB. (2018)	Macrófagos (In vitro)	Bolivia (DTU I) Y (DTU II)	-
A novel <i>Trypanosoma cruzi</i> secreted antigen as a potential biomarker of Chagas disease.	Nagarkatti R, Acosta D, Acharyya N, de Araujo FF, Elói-Santos SM, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Debrabant A. (2020)	Camundongos Swiss (In vivo)	CL (DTU I) Y (DTU II)	Coração
Sheltered in Stromal Tissue Cells, <i>Trypanosoma cruzi</i> Orchestrates Inflammatory Neovascularization via Activation of the Mast Cell Chymase Pathway	Velasco L, Svensjö E, Bulant CA, Blanco PJ, Nogueira F, Domont G, de Almeida NP, Nascimento CR, Silva-Dos-Santos D, Carvalho-Pinto CE, Medei EH, Almeida IC, Scharfstein J. (2022)	LLC-MK2 (In vitro)	Clone Dm28c (DTU-I)	-
Nitazoxanide: A Drug Repositioning Compound with Potential Use in Chagas Disease in a Murine Model	Arce-Fonseca M, Gutiérrez-Ocejo RA, Rosales-Encina JL, Aranda-Fraustro A, Cabrera-Mata JJ, Rodríguez-Morales O. (2023)	Camundongos BALB/c fêmeas (In vivo)	Albarrada (DTU I) Ninoa (DTU I)	Coração Baço Esôfago Intestino grosso Intestino delgado Cérebro Músculo esquelético Linfonodos periféricos (poplíteos)
Genome-scale metabolic models highlight stage-specific differences in essential metabolic pathways in <i>Trypanosoma cruzi</i>	Shiratsubaki IS, Fang X, Souza ROO, Palsson BO, Silber AM, Siqueira-Neto JL. (2020)	-	CL (DTU I)	-
Effectiveness of Nitazoxanide and Electrolyzed Oxidizing Water in Treating Chagas Disease in a Canine Model.	Rodríguez-Morales O, Mendoza-Téllez EJ, Morales-Salinas E, Arce-Fonseca M. (2023)	Cães Náhuatl (In vivo)	Cepa H8	Coração
Electrolyzed Oxidizing Water Modulates the Immune Response in BALB/c Mice Experimentally Infected with <i>Trypanosoma cruzi</i> .	Rodríguez-Morales O, Cabrera-Mata JJ, Carrillo-Sánchez SDC, Gutiérrez-Ocejo RA, Baylón-Pacheco L, Pérez-Reyes OL, Rosales-Encina JL, Aranda-Fraustro A, Hernández-García S, Arce-Fonseca M. (2020)	Camundongos BALB/c fêmeas (In vivo)	Ninoa (DTU I)	Coração Intestinos Linfonodos poplíteos Músculo esquelético Esôfago Baço Cérebro
Validation of Apolipoprotein A-1 and Fibronectin Fragments as Markers of Parasitological Cure for Congenital Chagas Disease in Children Treated With Benznidazole.	Ruiz-Lancheros E, Rasoolizadeh A, Chatelain E, Garcia-Bournissen F, Moroni S, Moscatelli G, Altcheh J, Ndao M. (2018)	Crianças com DC (In vivo)	-	-
High Throughput Approaches to Unravel the Mechanism of Action of a New Vanadium-Based Compound against <i>Trypanosoma cruzi</i> .	Mosquillo MF, Smircich P, Lima A, Gehrke SA, Scalese G, Machado I, Gambino D, Garat B, Pérez-Díaz L. (2020)	-	CL (DTU I)	-
Differential Gel Electrophoresis (DIGE) Evaluation of Naphthoimidazoles Mode of Action: A Study in <i>Trypanosoma cruzi</i> Bloodstream Trypomastigotes.	Brunoro GV, Faça VM, Caminha MA, Ferreira AT, Trugilho M, de Moura KC, Perales J, Valente RH, Menna-Barreto RF. (2016)	Camundongos Swiss albinos (In vivo)	Y (DTU II)	Coração

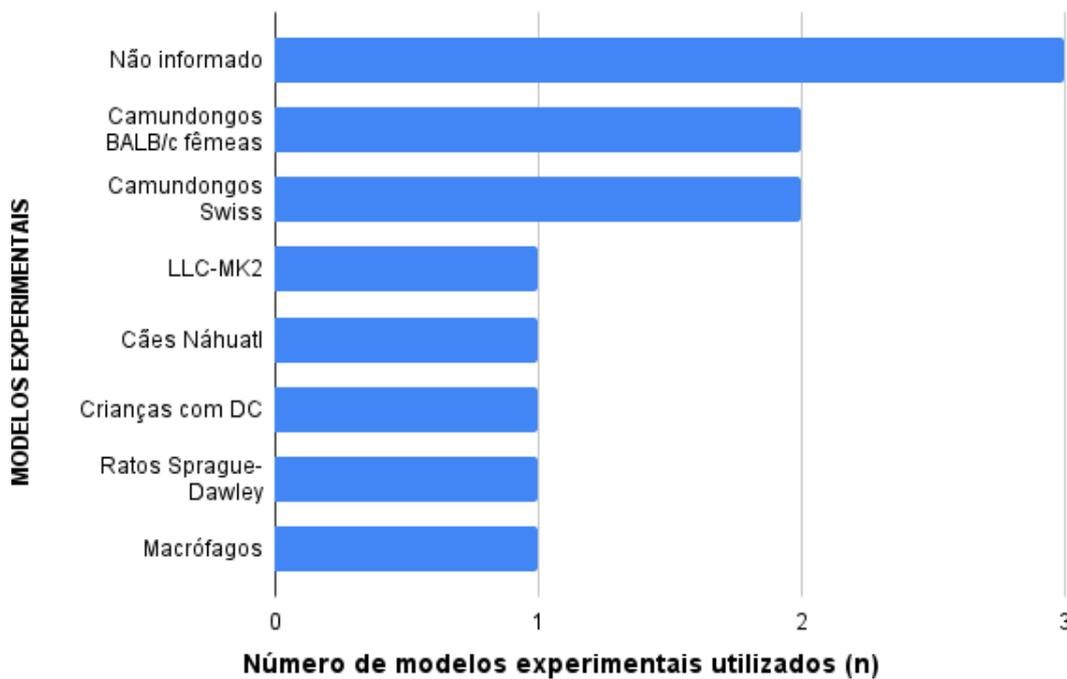
Ao realizar uma análise abrangente dos resultados obtidos, constatou-se que um total de 8 linhagens distintas de cepas do *T. cruzi* utilizadas ao longo dos estudos. De forma geral, destaca-se as cepas Y e CL apresentando 8,3% (juntas) apontadas pelo **Gráfico 1** e separadas ambas apresentando 16,7%, como as mais utilizadas pelo estudo. Notavelmente, é interessante observar que muitos estudos optaram por utilizar ambas as cepas, devido às suas características de susceptibilidade parcial ao BNZ, bem como à necessidade de abranger uma gama de cenários experimentais.

Gráfico 1 - Frequência de uso de cepas do *T. cruzi* (%)



ROMANHA et al., (2010) destaca que não há um consenso exato sobre protocolos de triagem *in vitro* e *in vivo* para testar medicamentos contra o *T. cruzi*, tornando isso uma justificativa para a falta de sucesso no desenvolvimento de novos fármacos. Apesar disso, cientistas estão empenhados em enfrentar os obstáculos que surgem no processo de criação de medicamentos para a doença de Chagas, isso inclui a identificação e validação de alvos parasitários, a avaliação de compostos contra esses alvos ou o próprio parasito, além do estabelecimento de um conjunto mínimo de procedimentos padronizados. O objetivo é impulsionar os compostos mais promissores em direção aos ensaios clínicos. Demonstrando a seguir, que não há um consenso prévio de utilização de modelos experimentais, sendo elas *in vivo* ou *in vitro* nos estudos aqui relacionados representadas na **Gráfico 2** do estudo.

Gráfico 2 - Número de modelos experimentais utilizados em estudo.



A proteômica desempenha um papel fundamental na identificação de proteínas, devido à sua capacidade de detectar alterações metabólicas relacionadas à patogênese de várias doenças. No caso do *T. cruzi*, a leitura é principalmente influenciada pelos aglomerados policistrônicos, que exercem um controle pós-transcricional na expressão gênica, sustentando assim a aplicação de técnicas neste protozoário. Após a primeira sequência do genoma do parasito em 2004, diversos estudos proteômicos foram conduzidos em todos os estágios de seu ciclo, visando identificar suas cepas e maximizar a identificação das proteínas associadas ao *T. cruzi*.

Com base nas descobertas de ANDRADE et al. (2008), é possível afirmar que estudos que exploram diferentes cepas de *T. cruzi* revelam uma expressão diferencial de uma ampla variedade de proteínas. Essa conclusão é corroborada pelos resultados obtidos em nossa própria pesquisa, na qual observamos um extenso espectro de proteínas com expressão distinta, sendo elas de proteínas reguladoras ou até mesmo de proteção. Alguns desses estudos destacaram variações altamente significativas, as quais têm presença de diversas cepas e linhagens celulares, assim como nas abordagens metodológicas empregadas. Vale ressaltar que a complexidade dessas variações proteicas é reforçada pelo estudo conduzido por EL-SAYED et al. (2005), no qual foi identificado um extenso número de proteínas: mais de 2.864 em todas as formas do parasito. Notavelmente, 1.861 dessas proteínas foram localizadas especificamente nas formas epimastigotas. Esse achado demonstra a riqueza da expressão proteica no *T. cruzi* e enfatiza a necessidade contínua de investigações abrangentes para entender as nuances

da expressão proteica em diferentes contextos parasitários.

Um exemplo demonstrativo, a proteína CYP51, que tem sido objeto de investigação na maioria dos estudos aqui apresentados. De acordo com SANTIAGO et al. (2015), essa proteína desempenha um papel fundamental no ciclo de vida do *T. cruzi*, demonstrando uma influência crucial em várias etapas do desenvolvimento do parasito. Essa multifuncionalidade é evidente em sua participação no mecanismo de invasão do tecido conjuntivo, bem como no envasamento das respostas imunológicas, conferindo-lhe um papel multifacetado e estratégico. Dada a sua relevância em processos essenciais para a sobrevivência do parasito, a proteína CYP51 se torna um alvo de grande interesse nos estudos bioquímicos relacionados ao *T. cruzi*. A exploração mais aprofundada dessa proteína tem potencial para desvendar os intrincados mecanismos subjacentes às interações parasito-hospedeiro e fornecer novos estudos para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas direcionadas. Segundo o autor Chatelain (2018), o *T. cruzi* é frequentemente designado como o "complexo cruzi", devido à sua notável variabilidade e à presença de polimorfismos identificados entre as diversas populações parasitárias. Nos últimos anos, foram realizados estudos recentes com o objetivo de padronizar técnicas e protocolos a fim de aprimorar a genotipagem do *T. cruzi*. Esforços foram direcionados para uma compreensão mais abrangente da genética do parasito, assim como para uma análise mais profunda de sua distribuição geográfica e epidemiologia. De acordo com o autor, isso se deve à notável capacidade do *T. cruzi* de infectar diferentes tipos de células. Por sua vez, explicando a diversidade na escolha de vários tipos celulares em experimentos.

Essa abordagem multifacetada é motivada pela amplitude da habilidade do parasito em estabelecer, manter e quantificar infecções, abrangendo uma ampla gama de contextos celulares. É recomendável que a análise do estudo seja conduzida diretamente em linhagens celulares já infectadas, utilizando uma única concentração de fármacos. Essa abordagem permitiria um monitoramento mais preciso dos efeitos, especialmente em relação à dinâmica entre amastigotas e tripomastigotas, como observado em um único estudo.

10. CONCLUSÃO

Podemos concluir que este estudo de revisão mostrou que, boas avaliações sistemáticas desempenham um papel crucial diante do rápido aumento do conhecimento científico na proteômica do *T. cruzi*. Estes tipos de análises auxiliam na compilação das informações disponíveis na literatura a respeito de uma importante padronização de linhagens celulares, utilização de cepas adequadas, concentração de BZ e proteínas quantificadas e assim obter um melhor entendimento sobre os diferentes aspectos apresentados dentro da doença de Chagas.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, Luciana O.; GALVÃO, LÚCIA MC; MEIRELLES, MARIA DE NAARETH SL; CHIARI, EGLERE; PENA, SERGIO DJ; MACEDO, ANDREA M. *"Differential tissue tropism of Trypanosoma cruzi strains:an in vitro study*, 2008.

ARAS JÚNIOR, R., GOMES, I., VEIGA, M., & MELO, A. D. S. (2003). **Transmissão vetorial da doença de Chagas em Mulungu do Morro**, Nordeste do Brasil.

ARCE-FONSECA M, GUTIÉRREZ-OCEJO RA, ROSALES-ENCINA JL, ARANDA-FRAUSTRO A, CABRERA-MATA JJ, RODRÍGUEZ-MORALES O. **Nitazoxanide: A Drug Repositioning Compound with Potential Use in Chagas Disease in a Murine Model. Pharmaceuticals (Basel)**. 2023 Jun 1;16(6):826. doi: 10.3390/ph16060826. PMID: 37375773; PMCID: PMC10302963.

BARBOSA, E. B., VIDOTTO, A., POLACHINIP, G. M., HENRIQUE, T., MARQUI, A. B. T., & Tajara, E.H. (2012). **Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas**. Revista da Associação Médica Brasileira, 58(3), 366-375.

BERMUDEZ, J. et al. **Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease**.Acta Trop, v. 156, p. 1-16, Apr 2016.

BOAINAIN, E.; RASSI, A. **Arquivo Brasil Cardiologico**. 1979, 32, 395.

BRUNORO GV, FAÇA VM, CAMINHA MA, FERREIRA AT, TRUGILHO M, DE MOURA KC, PERALES J, VALENTE RH, MENNA-BARRETO RF. **Differential Gel Electrophoresis (DIGE) Evaluation of Naphthoimidazoles Mode of Action: A Study in Trypanosoma cruzi Bloodstream Trypomastigotes**. PLoS Negl Trop Dis. 2016 Aug 23;10(8):e0004951. doi: 10.1371/journal.pntd.0004951. PMID: 27551855; PMCID: PMC4995053.

CAVALCANTI, L.P.G.; ROLIM, D.B.; PIRES NETO, R.J.; VILAR, D.C.L.F.; NOGUEIRA, CHATELAIN, ERIC; IOSET, JEAN-ROBERT. **Phenotypic screening approaches for Chagas diseasedrug discovery. Expert opinion on drug discovery**, v. 13, n. 2, p. 141-153, 2018.

CIMERMAN, B.; CEMERMAN, S. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. 2 ed. São Paulo: editora Atheneu, 2008. p. 81-112.

DE CASTRO SL, BATISTA DG, BATISTA MM, BATISTA W, DALIRY A, DE SOUZA EM, MENNA-BARRETO RF, OLIVEIRA GM, SALOMÃO K, SILVA CF, SILVA PB, SOEIRO M DE N. **Experimental Chemotherapy for Chagas Disease: A Morphological, Biochemical, and Proteomic Overview of Potential Trypanosoma cruzi Targets of**

Amidines Derivatives and Naphthoquinones. Mol Biol Int. 2011;2011:306928. doi: 10.4061/2011/306928. Epub 2011 Jun 30. PMID: 22091400; PMCID: PMC3195292.

DIAS, J.C.P.; AMATO NETO, V. **Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil.** Revista História sobre a Doença de Chagas no Brasil, v. 44, n°2. 2011.

EL-SAYED et al., **A Sequência do Genoma do *Trypanosoma cruzi*, Agente Etiológico da Doença de Chagas.** Ciência 309 , 409-415 (2005). DOI: 10.1126/science.1112631

EMIDIO, N. B., CARPANEZ, A. G., QUELLIS, L. R., FARANI, P. S., VASCONCELOS, E. G., FARIA-PINTO, P. (2015). **Proteômica: uma introdução aos métodos e aplicações.** HU Revista, Juiz de Fora, v.41, n. 3 e 4, p. 101-111, jul./dez. 2015.

FITARELLI, D.B.; HORN, J.F. **Descarte de bolsas de sangue devido à reatividade para doença de Chagas em um laboratório de triagem sorológica de doadores em Porto Alegre-RS.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2008.

GILBER, S. R. **Reação em cadeia da polimerase em comparação com o teste de imunofluorescência indireta (IFI) e ELISA (enzimaimunoensaio) no diagnóstico para a doença de Chagas.** Curitiba-PR. Dissertação em processos biotecnológicos, setor de tecnologia. Universidade Federal do Paraná. 2007.

J.O.L.; POMPEU, M.M.L.; TEIXEIRA, M.J.; SOUSA, A.Q. **Microepidemia de doença de Chagas aguda por transmissão oral no Ceará.** Cad. Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, n°17, v. 4, p. 911-921. 2009.

KROPF, SIMONE P.; AZEVEDO, NARA; FERREIRA, LUIZ O. **Doença de Chagas: a construção de um fato científico e de um problema de saúde pública no Brasil.** Ciênc. saúde coletiva , [s. l.], 19 jul. 2007.

LILIOSO, CLEANNE LIMEIRA. **Análise proteômica de *Trypanosoma cruzi* epimastigotas derivados de tripomastigotas de portadores com diferentes formas clínicas da doença de Chagas.** Campinas, 2022.

LOZANO, V. F. **Avaliação da atividade antiparasitária e efeito sinérgico de compostos cumarínicos comparados ao benzonidazol em duas cepas de *Trypanosoma cruzi*.** São Paulo. Dissertação. Universidade Bandeirantes de São Paulo. 2011.

MARKELL; VOGEL; JOHN; KROTOSKI. **Parasitologia médica.** 8 ed. Rio de Janeiro: editora Guanabara Koogan. 2003. p.126-136.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). **Guia de Vigilância em Saúde: volume único** [Internet]. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. Disponível em:

https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_3ed.pdf Acesso em: 19/08/2023.

MOSQUILLO MF, SMIRCICH P, LIMA A, GEHRKE SA, SCALESE G, MACHADO I, GAMBINO D, GARAT B, PÉREZ-DÍAZ L. **High Throughput Approaches to Unravel the Mechanism of Action of a New Vanadium-Based Compound against *Trypanosoma cruzi***. *Bioinorg Chem Appl*. 2020 Apr 11;2020:1634270. doi: 10.1155/2020/1634270. PMID: 32351549; PMCID: PMC7171612.

NAGARKATTI R, ACOSTA D, ACHARYYA N, DE ARAUJO FF, ELÓI-SANTOS SM, MARTINS-FILHO OA, TEIXEIRA-CARVALHO A, DEBRABANT A. **A novel *Trypanosoma cruzi* secreted antigen as a potential biomarker of Chagas disease**. *Sci Rep*. 2020 Nov 11;10(1):19591. doi: 10.1038/s41598-020-76508-1. PMID: 33177582; PMCID: PMC7658208.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. 11ed. São Paulo: editora Atheneu. 2005. p. 85-108.

RODRÍGUEZ-MORALES O, CABRERA-MATA JJ, CARRILLO-SÁNCHEZ SDC, GUTIÉRREZ-OCEJO RA, BAYLÓN-PACHECO L, PÉREZ-REYES OL, ROSALES-ENCINA JL, ARANDA-FRAUSTRO A, HERNÁNDEZ-GARCÍA S, ARCE-FONSECA M. **Electrolyzed Oxidizing Water Modulates the Immune Response in BALB/c Mice Experimentally Infected with *Trypanosoma cruzi***. *Pathogens*. 2020 Nov 23;9(11):974. doi: 10.3390/pathogens9110974. PMID: 33238401; PMCID: PMC7700191.

RODRÍGUEZ-MORALES O, MENDOZA-TÉLLEZ EJ, MORALES-SALINAS E, ARCE-FONSECA M. **Effectiveness of Nitazoxanide and Electrolyzed Oxidizing Water in Treating Chagas Disease in a Canine Model**. *Pharmaceutics*. 2023 May 12;15(5):1479. doi: 10.3390/pharmaceutics15051479. PMID: 37242721; PMCID: PMC10224175.

ROMANHA, ALVARO JOSÉ et al. **In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease**. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 105, n. 2, p. 233-238, mar. 2010.

RUIZ-LANCHEROS E, RASOOLIZADEH A, CHATELAIN E, GARCIA-BOURNISSEN F, MORONI S, MOSCATELLI G, ALTCHER J, NDAO M. **Validation of Apolipoprotein A-1 and Fibronectin Fragments as Markers of Parasitological Cure for Congenital Chagas Disease in Children Treated With Benznidazole**. *Open Forum Infect Dis*. 2018 Nov 1;5(11):ofy236. doi: 10.1093/ofid/ofy236. PMID: 30397621; PMCID: PMC6210386.

SALES VM, FERGUSON-SMITH AC, PATTI ME. **Epigenetic Mechanisms of Transmission of Metabolic Disease across Generations**. *Cell Metab*. 2017 Mar 7;25(3):559-571. doi: 10.1016/j.cmet.2017.02.016. PMID: 28273478; PMCID: PMC5404272.

SANTIAGO, V.; FRANKLIM, T. N.; LOPES, N. D.; LIMA, M. E. F. **"CYP51: Uma Boa**

Ideia?" Revista Virtual de Química, vol. 7, no. 2, pp. 539-575, 21 de fevereiro de 2015.
SANTOS JÚNIOR, A. DE C. MOREIRA DOS. **Proteômica de tripanosomatídeos: divisão celular de *Trypanosoma cruzi* e análise do proteoma de *Phytomonas serpens***. 2018. Universidade de Brasília, Brasília.

SHIRATSUBAKI IS, FANG X, SOUZA ROO, PALSSON BO, SILBER AM, SIQUEIRA-NETO JL. **Genome-scale metabolic models highlight stage-specific differences in essential metabolic pathways in *Trypanosoma cruzi***. PLoS Negl Trop Dis. 2020 Oct 6;14(10):e0008728. doi: 10.1371/journal.pntd.0008728. PMID: 33021977; PMCID: PMC7567352.

VELLASCO L, SVENJÖ E, BULANT CA, BLANCO PJ, NOGUEIRA F, DOMONT G, DE ALMEIDA NP, NASCIMENTO CR, SILVA-DOS-SANTOS D, CARVALHO-PINTO CE, MEDEI EH, ALMEIDA IC, SCHARFSTEIN J. **Sheltered in Stromal Tissue Cells, *Trypanosoma cruzi* Orchestrates Inflammatory Neovascularization via Activation of the Mast Cell Chymase Pathway**. Pathogens. 2022 Jan 29;11(2):187. doi: 10.3390/pathogens11020187. PMID: 35215131; PMCID: PMC8878313.

VIEIRA GAL, SILVA MTAD, REGASIN LO, COTINGUIBA F, LAURE HJ, ROSA JC, FURLAN M, CICARELLI RMB. ***Trypanosoma cruzi*: analysis of two different strains after pipilartine treatment**. Braz J Infect Dis. 2018 May-Jun;22(3):208-218. doi: 10.1016/j.bjid.2018.02.009. Epub 2018 Jun 5. PMID: 29879424; PMCID: PMC9425661.

WEN JJ, GARG NJ JJ. **Proteome expression and carbonylation changes during *Trypanosoma cruzi* infection and Chagas disease in rats**. Mol Cell Proteomics. 2012 Apr;11(4):M111.010918. doi: 10.1074/mcp.M111.010918. Epub 2011 Dec 22. PMID: 22199233; PMCID: PMC3322564.

WILKINSON, SR; TAYLOR, MC; CHIFRE, D.; KELLY, JM; CHEESEMAN, I. **Um mecanismo de resistência cruzada ao nifurtimox e benznidazol em tripanossomas**. Processo. Nacional. Acad. Ciência. EUA 2008 , 105 , 5022–5027

World Health Organization. **Chagas disease (American trypanosomiasis)** [Internet]. Geneva: WHO; 2020 . Available from: <https://www.who.int/health-topics/chagas-disease>

ZINGALES, B., MILES, M. A., MORAES, C. B., LUQUETTI, A., GUHL, F., SCHIJMAN, A. G., ... & Tibayrenc, M. (2021). ***Trypanosoma cruzi* genetic diversity: impact on transmission cycles and Chagas disease**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 116, e200554.

ZINGALES, Bianca; BARTHOLOMEU, Daniella C. **"*Trypanosoma cruzi* genetic diversity: impact on transmission cycles and Chagas disease."** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 117: e210193, 2022. Disponível online em: memorias.ioc.fiocruz.br